

MMA 6HF 使用说明书

为确保产品的性能和无忧的操作，使用前请仔细阅读本手册，有任何疑问请咨询本公司售后技术支持或当地的销售人员。

1. 产品介绍

MMA 6HF 是一种多模式生物分离介质，主要应用于单抗的中度纯化和精细纯化（用于去除 Protein A 纯化后样品中的 Protein A、二聚体、多聚物、宿主细胞蛋白、核酸），也可以应用于其它生物分子的精细纯化（去除二聚体、多聚物、宿主细胞蛋白、核酸等）。

*在 Protein A-4HF 使用过程中可能脱落的极微量 Protein A

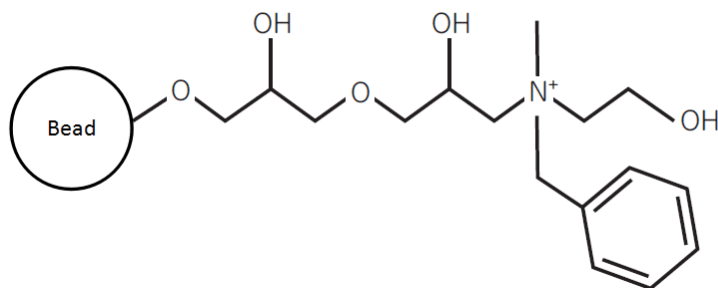


图1：MMA 6HF的配基是一种多模式配基，它与目标分子存在许多类型的相互作用，主要是离子作用(强阴离子作用)，其次是氢键作用和疏水作用等。

特点如下：

- 在高电导条件下结合带电分子，样本不再受电导的限制，样本不需要前处理就可进行离子交换。
- 载量高，采用流穿模式时具有更高处理量。和传统离子交换介质相比，具有新的选择性。

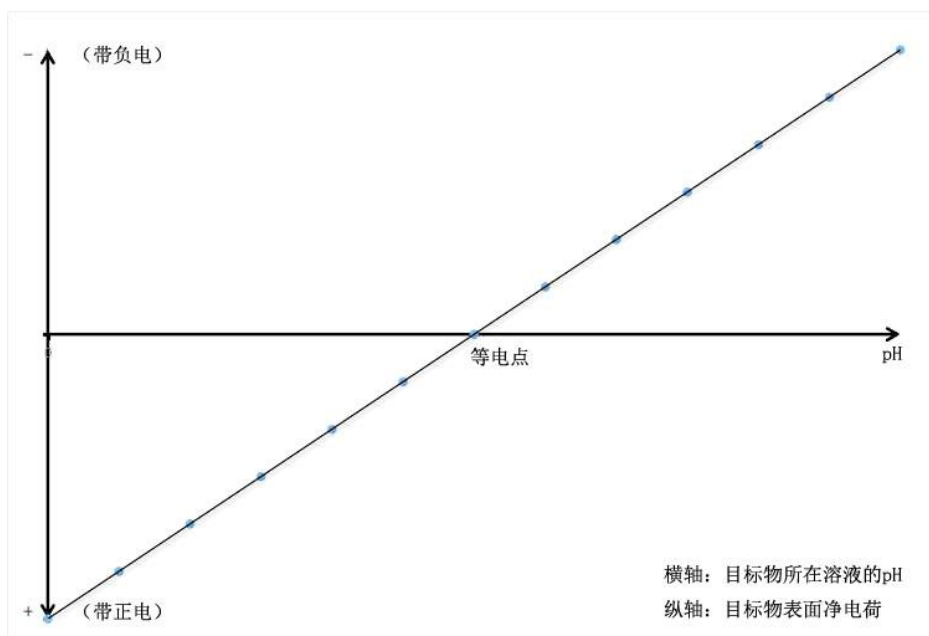
表1：性能参数

名称	MMA 6HF
基质	高刚性琼脂糖
粒径范围	45-165 μm
平均粒径	90 μm
介质类型	强阴离子交换
离子载量	90-120 $\mu\text{mol Cl}^-/\text{ml}$ 介质
pH 稳定性	2-14（短期）4-12（长期）
操作压力	$\leq 0.5\text{MPa}$
流速	1000 cm/h
化学稳定性	所有常用缓冲液、1.0M 氢氧化钠、1.0M 乙酸、8M 尿素、6M 盐酸胍、70% 乙醇 避免使用氧化剂、阴离子去污剂
贮存溶液	20% 乙醇
贮存温度	4-30 $^{\circ}\text{C}$



2. 离子交换介质的选择

图2：离子交换介质的选择



说明：

- 当目标物所在溶液的pH<目标物的等电点时，选择阳离子交换介质。
- 当目标物所在溶液的pH>目标物的等电点时，选择阴离子交换介质。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。
- 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH、盐的种类、盐的浓度必须能维持目标物的活性，避免目标物过酸/过碱水解、沉淀等情况。

3. 缓冲溶液的选择

表2：推荐缓冲液

pH 范围	缓冲盐	浓度 (mM)
4.0-5.0	Acetate	20-100
4.0-6.0	Citrate	20-200
5.5-6.5	Bis-Tris	20-50
6.0-7.5	Phosphate	50-200
7.5-8.5	Tris	20-50
8.5	Glycin-NaOH	20-100



说明：

- a. 必须严格按照表2的要求选择缓冲溶液的种类和浓度。
- b. 错误的缓冲液（种类和浓度）会干扰分离效果，具体体现在影响分离度、离子交换介质的载量、分离纯化过程中的pH波动等。
- c. 选择离子交换介质时，所有使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。
- d. 所有缓冲液试剂必须使用分析纯或者更高纯度的试剂。
- e. 在溶液配制后，须经过滤（粒径 $\leq 45\mu\text{m}$ 用 $0.22\mu\text{m}$ 过滤、粒径 $\leq 165\mu\text{m}$ 用 $0.45\mu\text{m}$ 过滤、粒径 $\leq 300\mu\text{m}$ 用 $0.8\mu\text{m}$ 过滤，避免堵塞离子交换介质）和脱气处理（影响分离效果）。

4. 纯化模式的选择

按纯化模式可以分为：吸附模式（目标物吸附，杂质流穿）和流穿模式（目标物流穿，杂质吸附）。

备注：建议优先选择流穿模式（具有更高的处理量，例如单抗的中度纯化和精细纯化），特殊情况下选择吸附模式。

5. 样品的制备

- a. 调节样品的pH（低浓度的弱酸/弱碱滴定或者进行缓冲液置换），检测样品中的电导。
- b. 样品过滤（粒径 $\leq 45\mu\text{m}$ 用 $0.22\mu\text{m}$ 过滤、粒径 $\leq 165\mu\text{m}$ 用 $0.45\mu\text{m}$ 过滤、粒径 $\leq 300\mu\text{m}$ 用 $0.8\mu\text{m}$ 过滤，避免堵塞离子交换介质）。

备注：不建议直接用强酸或强碱调整样品溶液的pH，可能会出现目标物的降解和失活；可以用凝胶过滤（G25）、透析、超滤的方法进行缓冲液置换。

6. 清洗

清洗后可以去除一些强结合性物质（例如一些强结合的蛋白、变性蛋白、脂类等），从而达到恢复介质的优良性能（例如载量、流动性、柱效等）。

建议每使用 5 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

- a. 用 20 倍柱体积的 0.1M NaAc pH 3.0 清洗后，再用 20 倍柱体积纯化水冲洗。
备注：用于去除强离子结合物质。
- b. 用 10 倍柱体积 1M NaOH 冲洗后，静置 0.5-1 小时，再用纯化水冲洗至中性。
备注：用于去除聚集在介质中的蛋白质沉淀、脂类和变性物质。
- c. 用 5-10 倍柱体积的 20% 乙醇冲洗后保存。
备注：20% 乙醇可以防止微生物的生长，20% 乙醇保存的介质可以在 4-30°C（4-8°C 更佳）保存。

7. 常见问题



表3：常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
流穿模式下，杂质不与介质结合或结合量较低；吸附模式下，目标物不与介质结合或结合量较低	1.上样量过载	降低上样量
	2.上样速度过快	降低上样流速
	3.蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质或更换新的介质
	4.杂质或目标物不带电或与介质带同样的电荷	筛选合适的结合缓冲液
	5.样品中加入了不合适的去污剂	检查样品中是否有不合适的去污剂
	6.结合条件不佳	优化结合条件（pH和电导）
吸附模式下，洗脱时没有收集到目标物	1.目标物没有与介质结合或结合量较少	先确认目标物是否与介质结合
	2.洗脱条件不合适	洗脱液洗脱能力不够，调整洗脱液pH或加大盐浓度
	3.洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	4.洗脱体积过小	加大洗脱体积
	5.目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀	检测目标物在洗脱液条件（盐浓度和pH）下的溶解度和稳定性。
目标物纯度较低	1.样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	2.样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低粘度。
	3.吸附模式下，洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4.杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5.吸附模式下，洗脱条件不佳	优化洗脱条件
	6.目标物出现降解	检测目标物的稳定性
	7.柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	8.分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	9.介质中有微生物生长	介质使用完后，请及时正确保存介质
	10.流穿模式下，杂质结合条件不佳	优化纯化工艺条件



介质载量下降	1.上样速度过快	降低上样流速
	2.蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降。	及时清洗介质
	3.使用次数过多，配基被氧化或脱落	及时清洗介质或更换新介质
色谱峰上升缓慢	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2.蛋白沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性和介质的结合效率
	3.分离柱中微生物生长	所用试剂必须经过过滤和脱气； 样品上柱前必须离心或过滤

8. 订购信息

表4：订购信息表

产品	规格(ml)	货号
离子交换凝胶MMA 6HF	25	HY1006-4
离子交换凝胶MMA 6HF	100	HY1006-4
离子交换凝胶MMA 6HF	500	HY1006-4
离子交换凝胶MMA 6HF	1000	HY1006-4

备注：大规格包装产品或其它产品购买，请咨询本公司当地销售或售前技术支持。

